

Würzburg, 1959

NIEDERMOLEKULARE N-HALTIGE VERBINDUNGEN
DES OPIUMS

Eine neue Möglichkeit zur Bestimmung
seiner Herkunft

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

LANE LIBRARY. STANFORD UNIVERSITY

vorgelegt von
Manfred Hlubek

aus
Würzburg

1959



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153517_0193

NIEDERMOLEKULARE N-HALTIGE VERBINDUNGEN
DES OPIUMS

Eine neue Möglichkeit zur Bestimmung
seiner Herkunft

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von
Manfred Hlubek
aus
Würzburg

1959

Referent : Professor Dr. R. Dietzel

Korreferent: Priv. Doz. Dr. P.H. List

Eingereicht am: 26. V. 1959

Prüfung am: 13. VII. 1959

Tag der Promotion: 28. 7. 59

Herrn Dr. -Ing. Bernhard Möhlmann

in Verehrung.

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
Einleitung und Problemstellung	3
Allgemeiner Teil	
Untersuchung von Endlaugen der Alkaloidgewinnung	11
Untersuchung von Handelsopium	16
Charakterisierung der flüchtigen Amine mit Hilfe mikrokristallographischer Methoden	19
Präparative Papierchromatographie zur Isolierung der flüchtigen Amine	22
IR-Spektrum	24
Versuche zur Erfassung von Aminen aus kleinen Opiumproben	26
Beitrag zur Chemie des Kotarnolins	29
Zusammenfassung	34
Experimenteller Teil	
Papierchromatographie	37
Die "nichtphenolische" Endlauge	38
Die "phenolische" Endlauge	39
Zerlegung des Opiums mit stark basischem Ionenaustauscher	41
Papierchromatographische Erkennung der flüchtigen Amine	42
Elektrophoretische Auftrennung und Identifizierung der flüchtigen Amine	44
Synthese einiger Vergleichssubstanzen	44
Präparative Papierchromatographie	45
Mikrokristallisation in der feuchten Kammer	46
Isolierung des Kotarnolins	48
Literaturverzeichnis	51

Opium ist auf Grund seiner zahlreichen Alkaloide, vor allem des Morphins, eine der wertvollsten Drogen überhaupt. Die medizinische Bedeutung, die diese Alkaloide seit langem besitzen, rechtfertigt den intensiven Anbau des Schlafmohnes, der Stamm-pflanze des Opiums. Leider aber sind Opium selbst und einige seiner Alkaloide begehrte Suchtmittel, so daß es einer scharfen Kontrolle des Opiumanbaues und der Opiumverarbeitung bedarf, um den ungesetzlichen Handel und Verbrauch weitgehend zu verhindern und so die Sucht und deren gefährliche Folgen möglichst zu unterbinden.

Bei der geographischen und politischen Struktur der opium-erzeugenden Länder ist es verständlich, daß die tatsächlich ge-wonnene Jahresmenge an Opium auch heute nur roh geschätzt wer-den kann (1). Der Schwarzhandel mit Opium besitzt Ausmaße, die sich ein nichteingeweihter Mitteleuropäer kaum vorzustellen ver-mag. Obwohl die jährlich aufgebrauchten Mengen an Konterbande zwangsläufig nur einen Bruchteil des illegal gehandelten Opiums darstellen können, lassen die Zahlen höchst interessante Schlüsse zu. Die im Jahre 1948 allein aus Ägypten stammende beschlag-nahmte Ware belief sich auf 4,5 t Opium (2).

Die "Liga der Nationen" bildete in Genf ein beratendes Komitee für den Handel mit Opium und anderen gefährlichen Dro-gen und traf am 13.7.1931 ein Abkommen (3), das die Überwa-chung des Verkehrs mit Betäubungsmitteln bedeutend verschärfte. Nach dieser Konvention verpflichteten sich die Unterzeichnerstaa-ten, zu denen vor allem die Opiumerzeuger gehörten, alle Ermitt-lungen bezüglich der Herkunft von aufgebrachtem Opium der

Liga zur Verfügung zu stellen. Die Kenntnis des Herkunftslandes illegaler Ware sollte dem Völkerbund die Möglichkeit geben, den internationalen Regeln und Gesetzen bei den betreffenden Ländern nachdrücklich Geltung zu verschaffen. Diese Aufgaben des Völkerbundes sind vor zehn Jahren an die "Commission on Narcotic Drugs of the United Nations" übergegangen (4).

In ständiger Zusammenarbeit mit den einzelnen Opiumkommissionen und zahlreichen Wissenschaftlern in aller Welt ist das Laboratorium der Vereinten Nationen in Genf heute in der Lage, mit relativ großer Sicherheit die Herkunft einer Opiumprobe zu bestimmen. Man bedient sich dabei sowohl rein kriminalistischer Beobachtungen der Begleitumstände als auch der Feststellung von Unterschieden der natürlichen Eigenschaften der einzelnen Opiumsorten. Zu den Begleitumständen gehören der Ort der Beschlagnahme, die Verpackung, äußere Form und Beschaffenheit der "Brote" - wie die Opiumblöcke heißen -, schließlich die Zusätze, die für bestimmte Anbaugebiete charakteristisch sind, und manches andere mehr (5, 6). Diese Begleitumstände aber können zu Fehlschlüssen führen, da sie häufig vom Zufall abhängig sind und außerdem von den Schmugglern leicht verändert werden können. Weniger trügerisch ist die chemische Zusammensetzung der einzelnen Opiumsorten. Als Naturprodukt unterliegt das Opium den klimatischen Bedingungen der Landstriche, in denen der Mohn angebaut wird, ebenso wie den Arbeitsgepflogenheiten der Opiumbauern (7). Nicht zuletzt aber ist für seine Zusammensetzung die Mohnrasse oder -art hauptverantwortlich. Freilich sind die Unterschiede nicht groß, da es sich in allen Fällen um die gleiche Droge mit den gleichen Wirkstoffen handelt. Die Schwierigkeit liegt also darin, die eklatantesten unter den wenig auffallenden qualitativen und quantitativen Verschiedenheiten zu ermitteln und Charakteristika für die einzelnen Opiumsorten festzulegen.

Hierzu wird nach einem bestimmten Schema jede eingesandte Probe zunächst auf ihre makroskopische Beschaffenheit hin geprüft. Farbe, Aussehen, Konsistenz, Verfälschungen, Geruch und Umhüllungen werden registriert. Die anschließende mikroskopische Prüfung zeigt das Vorhandensein oder Fehlen von charakteristisch geformten Kristallen an, besonders im polarisierten Licht (8). Von den chemischen Methoden werden zuerst einfache Farbreaktionen mit den Opiumproben durchgeführt, die gegebenenfalls auch quantitativ ausgewertet werden, wie z. B. die sogenannte Porphyroxin-Meconidin-Probe (9, 10). Sie beruht auf der Farbreaktion eines in seiner Konstitution noch unbekannten, von E. MERCK 1837 (11) bereits entdeckten Alkaloides mit Salzsäure. Obwohl dessen Konzentration im Opium allgemein sehr gering ist, gibt die intensive Rotfärbung im Kolorimeter sehr brauchbare Hinweise auf die Herkunft der Proben. In der qualitativen Zusammensetzung der bekannten Alkaloide unterscheiden sich die einzelnen Opiumsorten nur in Ausnahmefällen. So enthalten die Proben fast aller indischen Anbauggebiete merkwürdigerweise kein Thebain (12). Damit kommen qualitative Untersuchungen hier nicht in Betracht. Dagegen wurden in letzter Zeit mehr und mehr Methoden entwickelt, denen die quantitative Bestimmung meist zweier Alkaloide zugrunde liegt. Trägt man beispielsweise die Werte von Narkotin und Morphin in ein Koordinatensystem ein, so erhält man Inseln von Punkten, innerhalb derer die Werte von Opium aus gleichen Anbaugebieten liegen (13). Das gleiche ist der Fall, wenn das Verhältnis z. B. von Codein zu Morphin einerseits und etwa Narkotin zu Morphin andererseits graphisch aufgezeichnet wird (14). Schließlich sind hier sogar die prozentualen Zusammensetzungen der Aschen von Opium herangezogen worden.

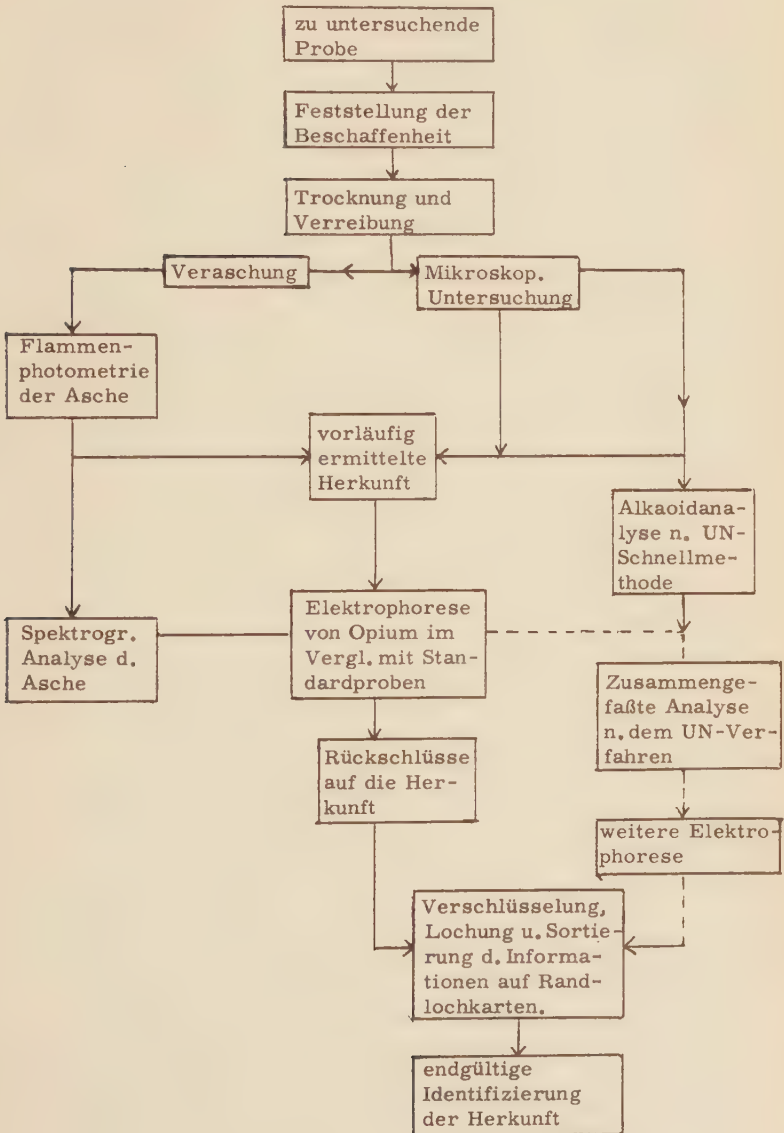
Die so erhaltenen Inseln überlappen sich jedoch mehr oder weniger stark, so daß nur mehrere auf eine Probe angewendeten

Methoden schließlich den schlüssigen Beweis ihrer Herkunft liefern können.

Die ermittelten Eigenschaften und Werte werden verglichen mit denen von etwa 350 verschiedenen Opiumsorten bekannter Herkunft, die als Standardproben in Genf vorliegen, und erlauben meistens eine endgültige Aussage. Die Gesamtheit der Kennzahlen nennt man dort im Laborjargon "the fingerprint of opium".

Unter Zusammenfassung bewährter und neuzeitlicher Untersuchungsmethoden und der Erfassung aller bekannten Daten untersuchter Opiumproben auf Randlochkarteikarten gelingt es nach C.G. FARMILO und J.C. BARTLET (14), 95 % der beschlagnahmten Proben zu identifizieren. Ein der oben zitierten Arbeit entnommenes Untersuchungsschema soll den zur Erkennung der Herkunft von Opiumproben dienenden Analysengang zeigen.

SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES ANALYSENGANGES
ZUR HERKUNFTSBESTIMMUNG VON OPIUM.



Je mehr Einzelcharakteristika verschiedener Opiumsorten ermittelt werden können, desto sicherer wird die Aussage über die Herkunft aufgebrauchter Bannware sein. Das "Committee of Experts on the United Nations Programme of Opium Research" diskutierte das Vorhandensein noch anderer stickstoffhaltiger Verbindungen neben den Alkaloiden, da Stickstoffbestimmungen in alkaloidfreien Opiumauszügen positiv ausfielen (15). Man vermutete Phosphatide, Aminosäuren und andere organische Verbindungen, die in Beziehung zu den übrigen Inhaltsstoffen gebracht werden könnten und somit weitere Erkennungsmerkmale darstellten.

Bei einer Besprechung zwischen einem Mitglied der "World Health Organisation" und Herrn Priv. Dozent Dr. P.H. LIST wurde vereinbart, daß Opium im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg auf niedermolekulare stickstoffhaltige Verbindungen untersucht werden sollte.

Da Opium selbst noch nicht auf das Vorkommen von biogenen Aminen geprüft worden ist und frühere Untersuchungen sich nur mit der Frischpflanze oder mit dem frischen Milchsaft beschäftigten, sollte zunächst einmal festgestellt werden, ob und welche Amine und Aminosäuren im handelsüblichen Opium enthalten sind. Einer späteren Arbeit bleibt es dann vorbehalten, die Untersuchungen auf Opiumsorten bekannter Herkunft zu übertragen, um gegebenenfalls eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit zu schaffen.

L. REUTTER DE ROSEMONT (16) untersuchte sterilisierten physiologischen Mohnsaft und wollte damit zur Klärung der Frage beitragen, ob die Opiumalkaloide schon im nativen Mohnsaft vorhanden wären. Er destillierte den zunächst sauer reagierenden Extrakt im Vakuum und stellte im Destillat Ameisensäure

und Essigsäure fest. Der verbliebene Rückstand wurde bei soda-alkalischem Milieu wasserdampfdestilliert; hier konnte L. REUTTER DE ROSEMONT aus dem Destillat Pyrrolidin isolieren von dem er glaubte, daß es mit Methylpyrrolidin verunreinigt gewesen sei. Die weitere Behandlung des harzigen Rückstandes mit verschiedenen Extraktionsmitteln erbrachte mehrere Basen mit folgenden Summenformeln:



E. STEIN VON KAMIENSKI (17) veröffentlichte 1957 eine Arbeit, in der Blütenpflanzen auf ihren Gehalt an flüchtigen Aminen untersucht wurden. Zu seinen Untersuchungen benutzte der Autor Frischpflanzen, unter anderem auch *Papaver somniferum*, worin er keine flüchtigen Amine erfassen konnte.

ALLGEMEINER THEIL

UNTERSUCHUNG VON ENDLAUGEN DER ALKALOIDGEWINNUNG.

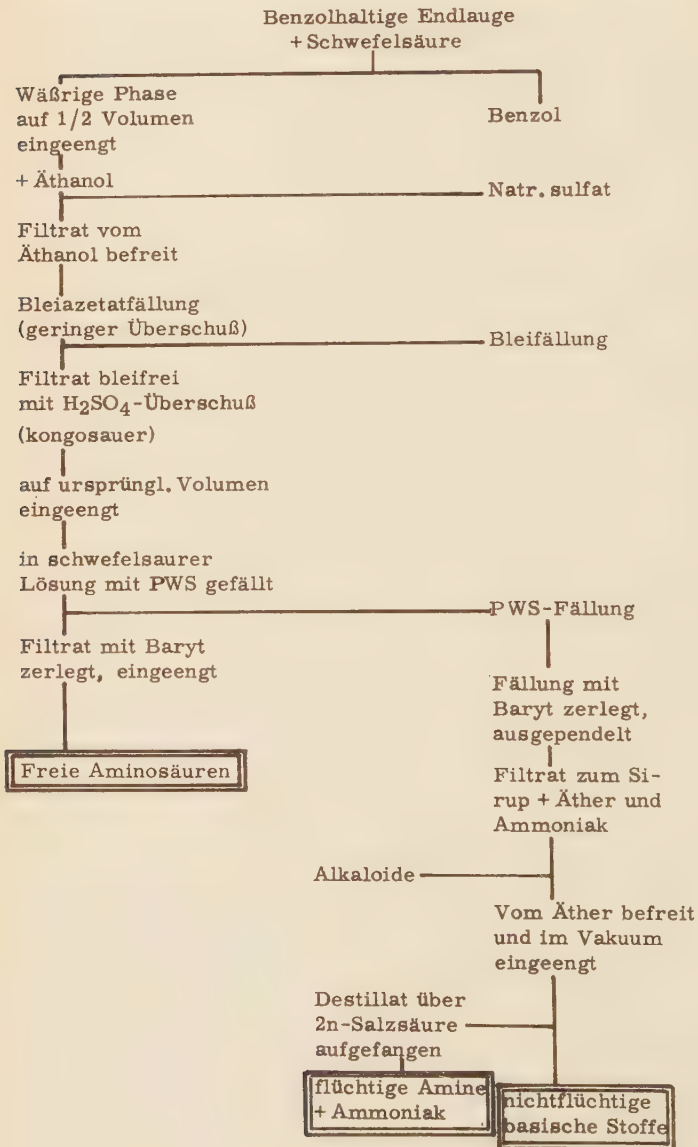
Da bei der Untersuchung von Opium auf biogene Amine die in der Droge enthaltenen wertvollen Alkaloide nicht nur unberücksichtigt bleiben sollten, sondern sogar die Ermittlung der Amine erschwert hätten, war es angenehm, daß die Firma Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein, Rückstände der Opiumaufbereitung dankenswerterweise zur Verfügung stellte.

Dabei handelte es sich um eine sogenannte "nichtphenolische" und um eine "phenolische" Endlauge, denen durch verschiedene Lösungsmittel im alkalischen und ammoniakalischen Bereich die Alkaloide weitgehend entzogen waren. Hierbei war die "phenolische" Endlauge bei der Gewinnung der Alkaloide mit phenolischer Hydroxylgruppe angefallen, die "nichtphenolische" Endlauge bei der Isolierung der entsprechenden anderen Basen ohne phenolische Hydroxylgruppe.

Nach dem von KOSSEL und KUTSCHER (18) beschriebenen Verfahren versuchte ich, die niedermolekularen stickstoffhaltigen Verbindungen so weit wie möglich zu erfassen. Wie in Schema I gezeigt, wurde zuerst die "nichtphenolische" Endlauge mit Schwefelsäure angesäuert und auf das halbe Volumen eingeeengt, wobei das noch von der industriellen Aufarbeitung herrührende Benzol mit abdestillierte. Die im eingeeengten wässrigen Extrakt befindlichen Basen wurden nach Vorreinigung mit Phosphorwolframsäure (PWS) bei schwefelsaurer Reaktion gefällt. Das Filtrat dieser Fällung enthielt freie Aminosäuren, die papierchromatographisch nach der von EUBEL (19) angegebenen Methode untersucht wurden, wonach 9 Aminosäuren festgestellt und identifiziert werden konnten.

SCHEMA I

NICHTPHENOLISCHE ENDLAUGE DER OPIUMVERWERTUNG.



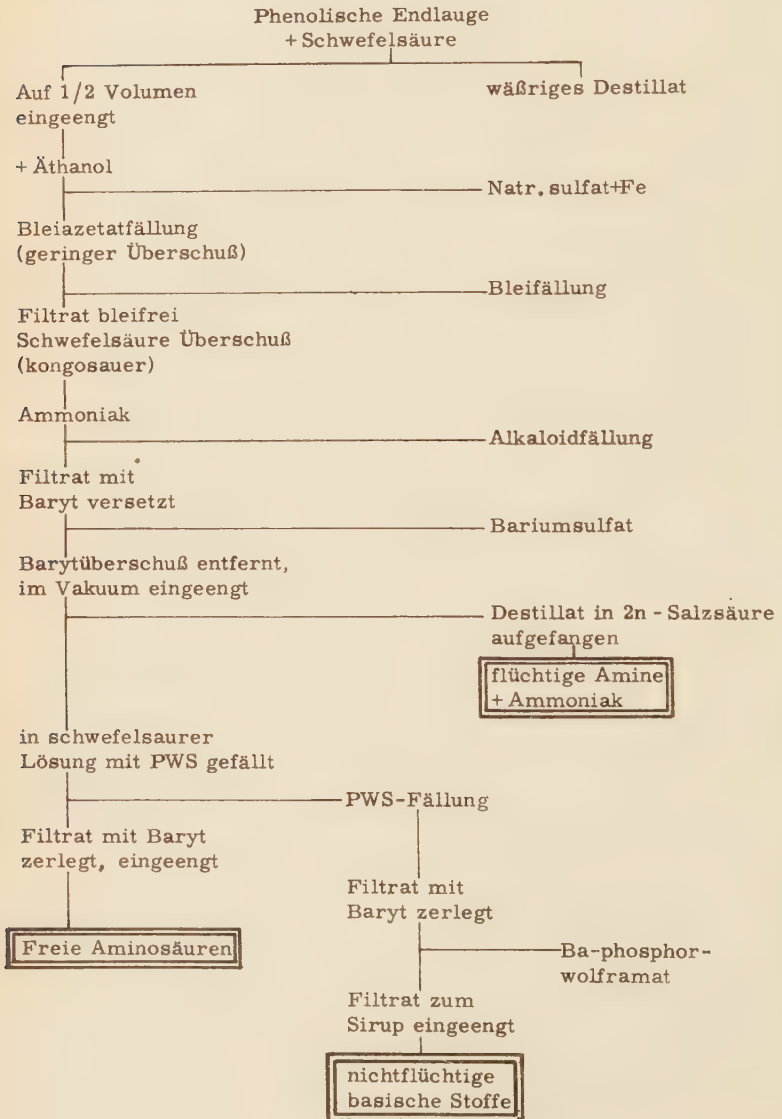
Nach Zerlegung der Phosphorwolframate mit Baryt wurde die Lösung der freien Basen im Vakuum stark eingeeengt. Die dabei übergegangenen flüchtigen Amine fing ich in 2n - Salzsäure auf und erhielt nach der Destillation ein Gemisch von Ammonchlorid und Aminhydrochloriden. Durch wiederholte Digestion mit absolutem Alkohol wurde versucht, letztere vom Ammonchlorid zu trennen. Wegen der verhältnismäßig geringen Ausbeute an flüchtigen Aminen wurde zunächst nur eine elektrophoretische und papierchromatographische Trennung und Identifizierung mit Testsubstanzen durchgeführt. Mit Hilfe der beiden genannten Methoden gelang es, 7 flüchtige Amine zu erkennen. Die geringe Ausbeute ließ die präparative Isolierung der Basen nicht zu. Die weitere Untersuchung der Fraktion der nichtflüchtigen Basen zeitigte keine wesentlichen Ergebnisse. Der sirupartige Rückstand gab nach Versetzen mit Silbersalz bei schwefelsaurer Reaktion keinerlei Fällungen. Die nach dem Trennungsgang von KOSSEL und KUTSCHER zu erwartenden Fraktionen der Purine und die des Arginin und Histidin fehlten gänzlich. Nur in der Lysin-Fraktion gab es mit Reineckesalz eine schwache Fällung, die aus Basen alkaloidischer Natur bestand.

In der anschließend untersuchten "phenolischen" Endlauge war auf Grund des fabrikatorischen Trennungsganges eine größere Anzahl niedermolekularer Stickstoffverbindungen zu erwarten. Ein kleiner Teil der zur Verfügung stehenden Menge Endlauge wurde nach dem im vorhergehenden Kapitel erwähnten KOSSEL-KUTSCHER-Verfahren behandelt. Schema II zeigt den eingeschlagenen Weg.

Nach Vorreinigung mit Äthanol, wobei ich Natriumsulfat entfernte, und anschließender Bleifällung wurden die großtechnisch nicht erfaßten Alkaloide im ammoniakalischen Medium durch Ausschütteln mit Äther beseitigt. Dann wurde der Extrakt bariumkar-

SCHEMA II

PHENOLISCHE ENDLAUGE DER OPIUMVERWERTUNG.



bonatalkalisch im Vakuum eingeengt und das Gemisch der flüchtigen Amine in 2n - Salzsäure aufgefangen. Bei dieser Art der Aufarbeitung war zu erwarten, daß eine große Menge Ammonchlorid in dem Extrakt der flüchtigen Amine zu finden sein würde. Der Ammoniak ließ sich durch Destillation bei sodaalkalischer Reaktion über frisch gefälltem Quecksilberoxyd leicht entfernen.

Den eingedickten, sirupartigen Rückstand der Destillation versetzte ich bei schwefelsaurer Reaktion mit PWS. Die PWS-Fällung wurde wieder mit Baryt zerlegt und nach der Beseitigung des Bariumüberschusses mit Hilfe von Schwefelsäure im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz gebracht. Im Filtrat der PWS-Fällung konnten wiederum die freien Aminosäuren nachgewiesen werden. Dabei wurde festgestellt, daß sowohl in der "nichtphenolischen" als auch in der "phenolischen" Endlauge die gleichen Aminosäuren enthalten waren. In beiden untersuchten Teilen konnten Glykokoll, Alanin, Prolin, Leucin-Isoleucin, Phenylalanin, Threonin, Lysin, Tyrosin und Methionin erkannt werden.

Bei der papierchromatographischen und papierelektrophoretischen Untersuchung der flüchtigen Amine wurden im wesentlichen die gleichen Verbindungen wie in der "nichtphenolischen" Fraktion festgestellt und zwar Methylamin, Dimethylamin, Äthylamin, Isoamylamin, β -Phenyläthylamin und Pyrrolidin. Außerdem gelang es durch präparative Trennung des aus der "phenolischen" Endlauge erhaltenen Amingemisches, nach LIST und MENSSEN (20), Trimethylamin als Chloraurat zu isolieren.

Der zum dünnen Sirup eingedampfte Anteil der nichtflüchtigen basischen Stoffe ergab in einer Probe wiederum keine Fällung mit

Silbersalzen, was darauf hindeutete, daß keine Purine anwesend waren.

UNTERSUCHUNG VON HANDELSOPIUM.

Als die basischen niedermolekularen Verbindungen der Endlaugen aus der Opiumverarbeitung feststanden, war die Frage zu klären, inwieweit es sich bei den bisher ermittelten flüchtigen Aminen um technisch bedingte Zersetzungsprodukte der Alkaloide handeln konnte. Infolgedessen untersuchte ich handelsübliches Opiumpulver des DAB VI.

Die Extraktion des Opiums führte ich nach dem Perkulationsverfahren mit 1 %iger Essigsäure und anschließend mit destilliertem Wasser durch. Die schwach essigsauer reagierende Flüssigkeit engte ich im Vakuum stark ein und vermengte den dickflüssigen Extrakt in Portionen mit stark basischen Ionenaustauscher "Merck". Hierbei wurden die Anionen der als Salze im Opium vorkommenden Alkaloide von dem Ionenaustauscher gebunden und die Basen freigesetzt. Die wasserunlöslichen Alkaloide fielen jetzt aus und blieben durch die mechanische Filterwirkung der Kunstharzteilchen an dem Ionenaustauscher hängen.

Die hier interessierenden auch als freie Basen wasserlöslichen Verbindungen konnten mit Wasser vom Ionenaustauscher heruntergelöst werden. Dabei wurde solange nachgespült, bis das Elut keine alkalische Reaktion mehr zeigte. Der auf diese Weise erhaltene Extrakt wasserlöslicher Basen wurde bei eigenalkalischem Milieu im Vakuum destilliert und das Gemisch der flüchtigen Amine in 2n - Salzsäure aufgefangen. Das salzsaure eingeengte Destillat,

das die Aminhydrochloride enthielt, wurde mit Natriumkarbonat bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und zum Entfernen des Ammoniaks über frisch gefälltem Quecksilberoxyd wasserdampfdestilliert, wobei die flüchtigen Amine wieder in 2n - Salzsäure aufgefangen wurden. Die ammoniakfreie Lösung der salzsauren Amine brachte ich im Vakuum zur Trockne. Chromatogramm und Elektropherogramm zeigten im wesentlichen die gleichen Amine, wie sie bei der Untersuchung der Opiumendlaugen gefunden wurden. Trimethylamin konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Ein größerer Ansatz von Opium erbrachte eine ausreichende Menge flüchtiger Amine, mit denen Versuche unternommen werden konnten, die zu ihrer Erkennung führten.

Sämtliche Papierchromatogramme und Papierelektropherogramme, die mit solcherart gewonnenen Aminhydrochloriden angesetzt wurden, zeigten außer den schon bekannten Aminflecken eine mit Ninhydrin gelb bis braun reagierende Zone. Im Papierchromatogramm lag diese Zone zwischen den Flecken von Pyrrolidin und β -Phenyläthylamin, im Elektropherogramm zwischen denen von Isoamylamin und Pyrrolidin. Papierchromatographisch und elektrophoretisch konnte zunächst nur festgestellt werden, daß die unbekannte Verbindung mit folgenden Stoffen nicht identisch war: Piperidin, Chinolin, Benzylamin, N-Methyl-aminoäthanol, N-Methyl-benzylamin, N-Methyl-phenyläthylamin.

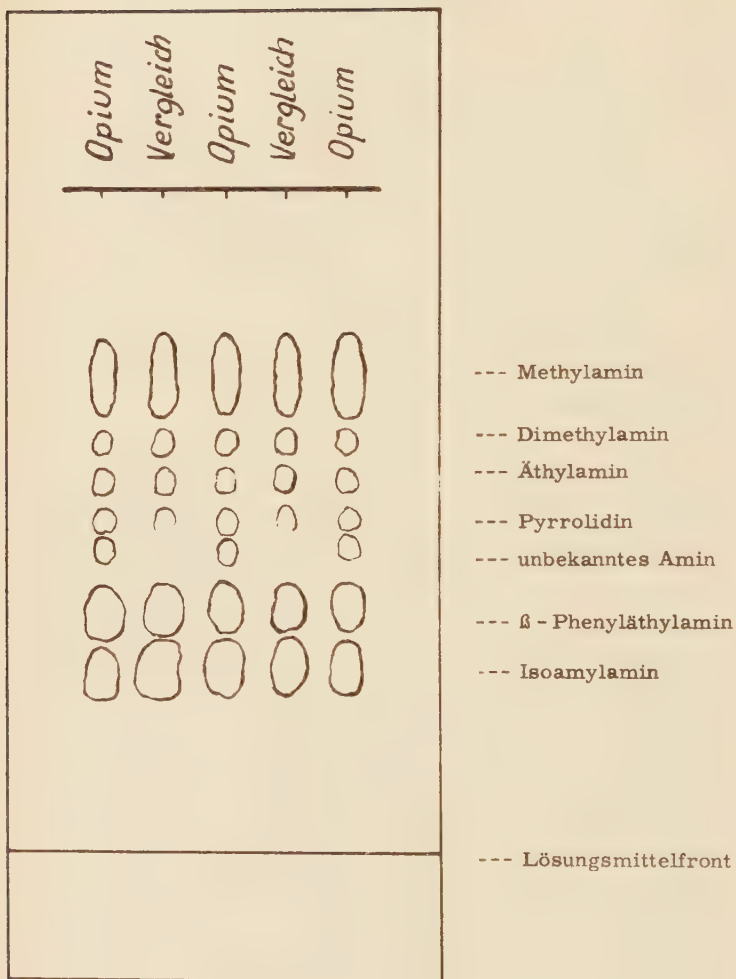


Abb. 1

Papierchromatogramm der flüchtigen
Amine

CHARAKTERISIERUNG DER FLÜCHTIGEN AMINE MIT HILFE MIKROKRISTALLOGRAPHISCHER METHODEN.

Die papierchromatographische Trennung der flüchtigen Amine wurde zunächst mit dem von E. STEIN VON KAMIENSKI (21) angegebenen Natriumazetat-gepufferten Papier versucht. Sie gelang aber wesentlich besser nach der von NEU und FIEDLER (22) beschriebenen Methode. Dazu wurde das Papier mit einer wässrigen Lösung sekundären Natriumphosphates imprägniert und mit einem Laufmittelgemisch n-Propanol: Ameisensäure: Wasser entwickelt. Die Lage der Flecken konnte durch ein mit Ninhydrin-Reagenz besprühtes Parallelchromatogramm ermittelt werden. Die jeweilige Partie des Papierstreifens wurde ausgeschnitten, mit Wasser eluiert und die Amine nach einem von mir abgeänderten Verfahren nach E. STEIN VON KAMIENSKI (21) zur Kristallisation gebracht. Diese Arbeit von E. STEIN VON KAMIENSKI fußt auf Veröffentlichungen von G. KLEIN und M. STEINER (23), M. STEINER (24), und M. STEINER und H. LÖFFLER (25), die ein mikrochemisches Verfahren zum Nachweis flüchtiger Amine entwickelt hatten.

E. STEIN VON KAMIENSKI hatte vorgeschlagen, die flüchtigen Amine aus natronalkalischer Lösung auf einen hängenden Tropfen einer Lösung von 2, 4-Dinitro- α -naphthol einwirken zu lassen. Beim völligen Verdunsten der Reagenzlösung erhielt er so Kristalle der 2, 4-Dinitro- α -naphtholverbindungen der untersuchten Amine, die auf Grund der Kristallformen und Schmelzpunkte identifiziert werden konnten.

Mir erschienen die Schmelzpunkte der einzelnen 2, 4-Dinitro- α -naphtholverbindungen der flüchtigen Amine zu wenig verschieden, um eindeutige Aussagen machen zu können. Zum anderen glaube ich, daß es sich bei aller Vorsicht oft nicht vermeiden läßt, einen gerin-

gen Überschuß an Reagenz im hängenden Tropfen zu haben, der sich dann in einer Schmelzpunktsdepression der zur Trockne gebrachten Kristallmasse störend auswirken dürfte.

Als Reagenz verwendete ich deshalb statt 2,4-Dinitro- α -naphthol eine wässrige, gesättigte Pikrinsäurelösung. Des weiteren brachte ich den Mikrobecher mit dem alkalisierten Elut und dem am Deckglas hängenden Tropfen Reagenzlösung in eine kleine feuchte Kammer. So bildeten sich die Aminpikrate, ohne daß der Tropfen eingedunstet war. Die überschüssige Reagenzlösung wurde vor der Schmelzpunktnahme mit einem Filtrierpapierstreifen quantitativ abgezogen. Die ermittelten Schmelzpunkte stimmten mit denen von Vergleichspikraten gut überein und unterschieden sich gegenseitig weit genug, um definitive Aussagen machen zu können.

TABELLE DER ERMITTELTEN SCHMELZPUNKTE.

Amin	Fp authent. Pikrat	Fp isoliert. Pikrat	Fp 2,4-Dinitro- α -naphtholverb.
Methylamin	200 ^o	199 - 200 ^o	165 - 166 ^o
Dimethylamin	156 ^o	155 - 156 ^o	170 - 171 ^o
Äthylamin	164 ^o	164 ^o	156 ^o
Pyrrolidin	110 - 111 ^o	110 ^o	168 - 170 ^o
unbek. Amin	- -	198 - 200 ^o	156 - 158 ^o
Isoamylamin	125 ^o	124 - 125 ^o	158 ^o
β -Phenyl- äthylamin	165 - 166 ^o	165 - 166 ^o	170 - 171 ^o

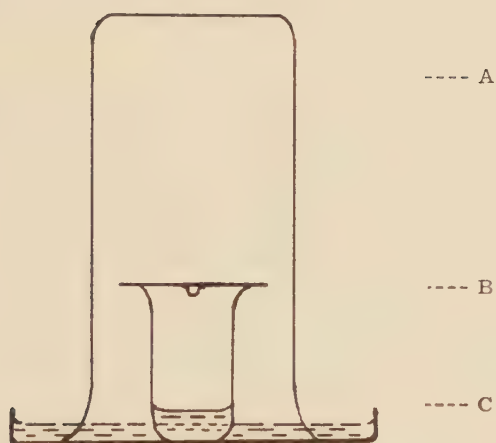


Abb. 2

Feuchte Kammer für die Mikrokrystallisation der Amine

A = Wasserdampfgesättigter Raum

B = Deckgläschen mit hängendem Tropfen Reagenzlösung

C = Alkalisiertes Aminelut

PRÄPARATIVE PAPIERCHROMATOGRAPHIE ZUR ISOLIERUNG DER FLÜCHTIGEN AMINE.

Wie in den vorbeschriebenen Kapiteln mitgeteilt, konnte zwischen den Flecken von Pyrrolidin und β -Phenyläthylamin im Chromatogramm eine weitere ninhydrin-positive Substanz beobachtet werden. Vergleichschromatogramme mit authentischen Stoffen erbrachten keine Aufklärung.

Das Basengemisch wurde auf die nach NEU und FIEDLER (22) vorbehandelten Papiere aufgetragen und im Chromatogramm getrennt. Ein schmaler vom entwickelten Bogen abgetrennter und mit Ninhydrin-Reagenz besprühter Streifen zeigte die Lage der einzelnen Amine an, die dann ausgeschnitten und mit Wasser vom Papier eluiert wurden. Bei sodaalkalischer Reaktion destillierte ich im Vakuum die Lösung des unbekannten Amins aus 40 Chromatogrammen in 2n - Salzsäure, so daß eine von Puffersalzen befreite Lösung des Amins entstand.

Die sehr geringen Mengen an Pyrrolidin und an unbekannten Amin, die auf diese Art isoliert werden konnten, wurden in die Chloraurate umgewandelt. Die IR-Spektren der beiden Chloraurate (Abbildung 5) zeigten, daß zwischen dem unbekannten Amin und Pyrrolidin eine Ähnlichkeit besteht. In diesem Zusammenhang wurde an das von L. REUTTER DE ROSEMONT (16) erwähnte Methylpyrrolidin gedacht. Doch liefert das Spektrum II des unbekannten Amins keinerlei Anhaltspunkte dafür.

Auf Grund der Banden bei 1390 und 765 cm^{-1} ist vielmehr eine cis-Alken-Bindung zu erwarten. Vermutlich liegt ein Pyrrol-Ring vor, da auch für $-\text{CH}_2-$ charakteristische Banden bei 3000 und 1440 cm^{-1} auftreten. Kein Merkmal war jedoch für eine Methylgruppierung gegeben.

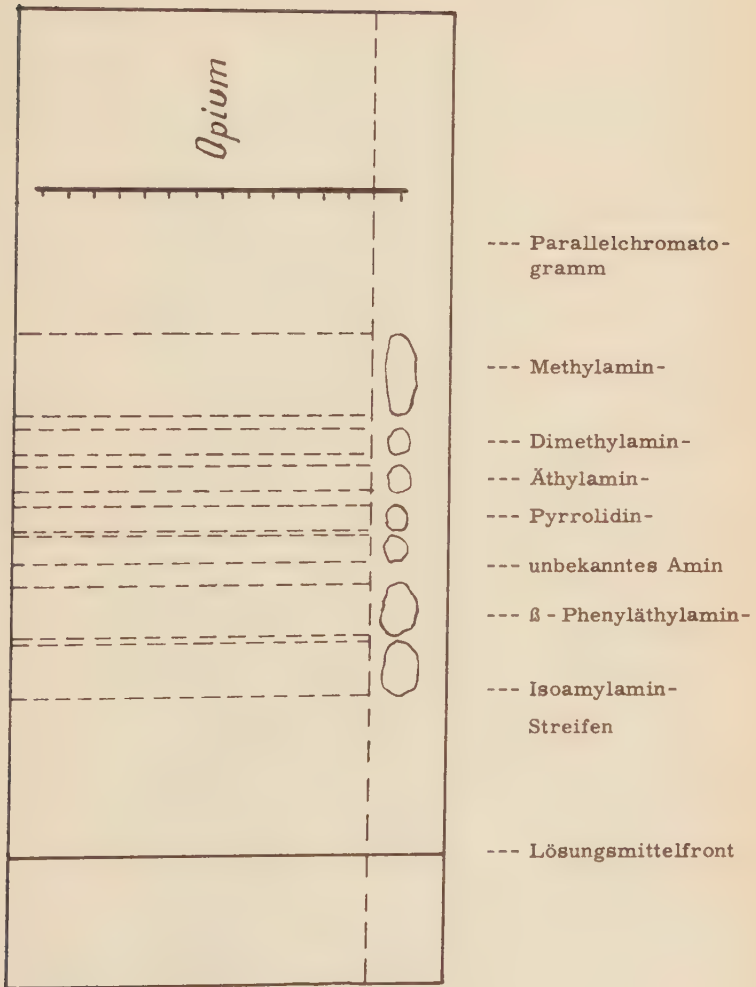


Abb. 4

Chromatogramm zur präparativen
Isolierung der flüchtigen Amine

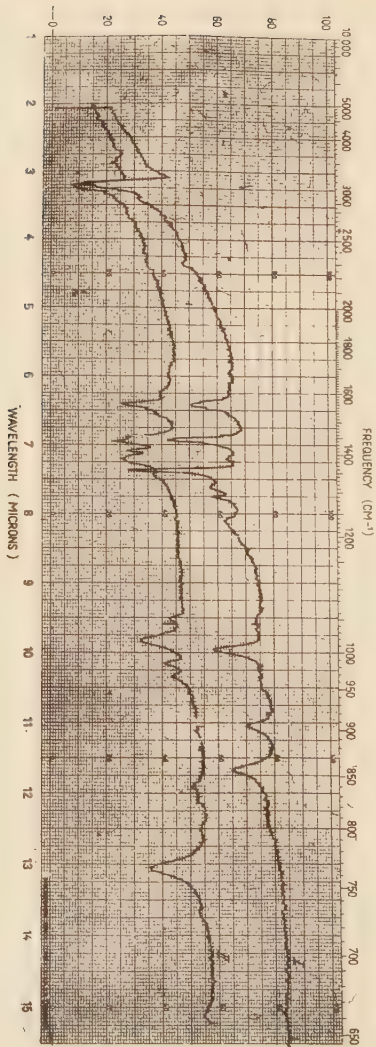


Abb. 5

IR-Spektrum I = Pyrrolidin
IR-Spektrum II = Diskutiertes, unbekanntes Amin

Die Untersuchungen sollen an neuem Material weitergeführt werden.

Allerdings sei hier darauf hingewiesen, daß das unbekannte Amin nur in einer von 3 untersuchten Opiumproben (Merck, Charge 52 798 A) gefunden wurde.

VERSUCHE ZUR ERFASSUNG VON AMINEN AUS KLEINEN OPIUMPROBEN.

Da die flüchtigen Amine auf so einfache Weise aus dem Opium ermittelt werden konnten und die Basen in der Droge in relativ großer Anzahl, jedoch in geringer Konzentration, vorhanden waren, schienen sie geeignet zu sein, als weitere Merkmale zur Erkennung von Opiumproben zu dienen.

Pulverisiertes Opium wurde, mit Seesand verrieben, in einer kleinen Apparatur (Abbildung 6) mit heißem Wasser extrahiert. Das Allihnrohr I, dessen Auslauf mit Kühlung versehen war, diente zur Aufnahme des Opiumpulvers. Der filtrierte und gekühlte Extrakt tropfte in ein darunter befindliches, mit stark basischen Ionenaustauscher gefülltes Allihnrohr II. Bis zur neutralen Reaktion des Eluts mußte mit Wasser nachgespült werden. Die flüchtigen Amine wurden von den nichtflüchtigen Basen durch Destillation bei eigenalkalischem Milieu im Vakuum getrennt und erneut über frisch gefälltem Quecksilberoxyd zur Beseitigung des Ammonchlorides destilliert. Die vollständige Eliminierung des Ammonchlorides aus dem Basengemisch war für die gute Trennung der Amine im Elektropherogramm erforderlich. Die wässrige salzsaure, ammonchloridfreie Lösung der Amine wurde im Vakuum zur Trockne gebracht.

Die Ergebnisse mehrerer Versuche ließen erkennen, daß die optimale Menge an Untersuchungssubstanz 10 g Opium betrug. Daraus konnte man genügend Amingemisch gewinnen, um elektrophoretisch und papierchromatographisch die flüchtigen Amine eindeutig nachweisen zu können.

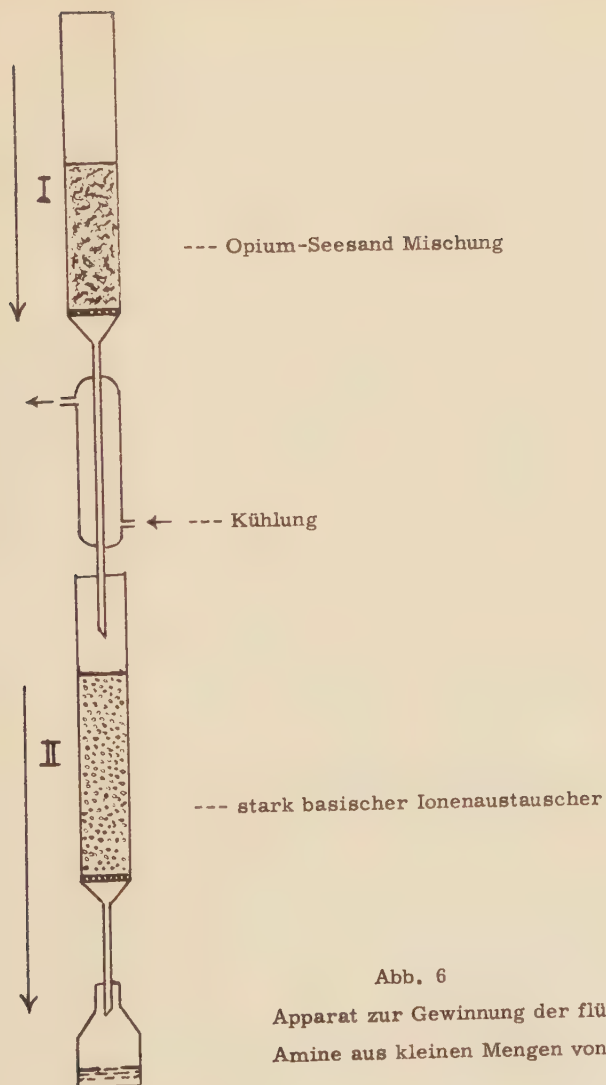


Abb. 6
Apparat zur Gewinnung der flüchtigen
Amine aus kleinen Mengen von Opium.

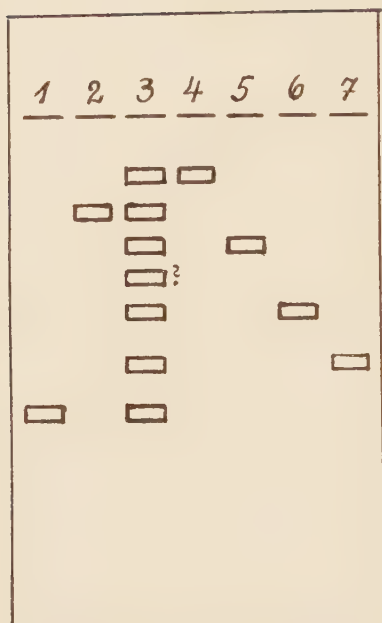


Abb. 7

Elektropherogramm der flüchtigen
Amine

- 1 = Methylamin
- 2 = Isoamylamin
- 3 = Amingemisch aus Opium
- 4 = β - Phenyläthylamin
- 5 = Pyrrolidin
- 6 = Äthylamin
- 7 = Dimethylamin

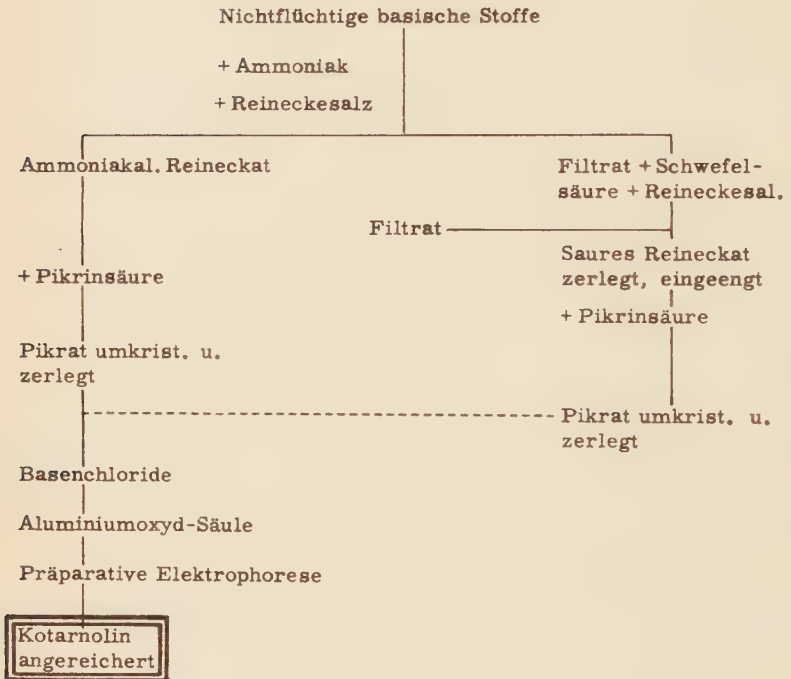
BEITRAG ZUR CHEMIE DES KOTARNOLINS.

Bei der Aufarbeitung sowohl der Endlauge als auch des handelsüblichen Opiums konnte ich bei alkalischer Reaktion eine intensive Gelbfärbung des beim Filtrieren entstandenen Schaumes beobachten. Die Färbung verblaßte wieder auf Säurezusatz.

Dieser gelbe "Farbstoff" trat besonders bei der Weiterverarbeitung der wasserlöslichen nichtflüchtigen Basen aus Opium in Erscheinung. Nach umseitig aufgezeichnetem Arbeitsschema III konnte die gefärbte Substanz im alkalischen Reineckat angereichert werden. Als Chlorid vom zerlegten Reineckat lief der noch mit anderen Basen verunreinigte Stoff zur weiteren Trennung über eine Aluminiumoxydsäule. Während des Chromatographierens mit wassergesättigtem n-Butanol zeigte sich eine schwächer gelb gefärbte Vorzone und dicht darauf eine stark gelbe Zone, die aufgefangen und im natronalkalischen Medium mit Chloroform ausgeschüttelt wurde. Diese vorgereinigte Fraktion der gelb gefärbten Substanz erwies sich im Elektropherogramm jedoch immer noch als mit anderen Basen verunreinigt, die in fluorescierenden Banden im UV-Licht zu sehen waren. Mit Hilfe der präparativen Elektrophorese nach GRASSMANN und HANNIG (26) konnte der "Farbstoff" nochmals von den Begleitsubstanzen abgetrennt werden. Der von mir isolierte gelbe Stoff hatte die gleichen Eigenschaften, wie sie S. PFEIFER und F. WEISS (27, 28, 29, 30) in ihren Veröffentlichungen vom Kotarnolin beschrieben hatten.

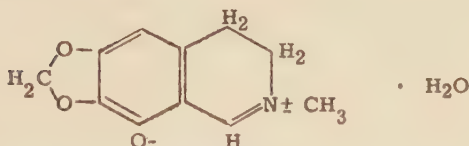
S. PFEIFER (31, 32) befaßte sich in weiteren Arbeiten mit der Konstitutionsaufklärung des Kotarnolins. Er nahm an Hand der chemischen Verhaltensweise des Alkaloides an, daß es die Struktur

SCHEMA III
ISOLIERUNG VON KOTARNOLIN.

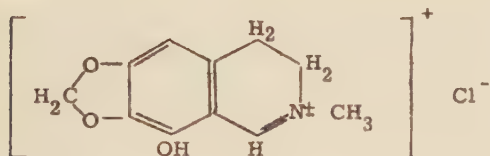


Reaktionen: Diazo = negativ
Millon = schwach positiv
Dragendorff = positiv

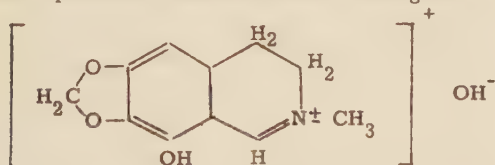
eines "inneren Salzes" haben müsse.



wodurch sich auch die Entfärbung beim Ansäuern leicht erklären ließe:



Nach v. BRUCHHAUSEN kann Kotarnolin jedoch auch in Form einer quartären Ammoniumbase vorliegen:



Als Beitrag zur Chemie des Kotarnolins gelang es mir, die von S. PFEIFER (32) festgestellte Konfiguration eines "inneren Salzes" zu bestätigen, indem ich zunächst das aus dem Opium isolierte Kotarnolin an der phenolischen Hydroxylgruppe mit Diazomethan methylierte und somit eine dem Kotarnin entsprechende Verbindung herstellte. Die Wanderungsstrecken von Kotarnolin und dessen Methylierungsprodukt wurden im Hochspannungselektropherogramm miteinander verglichen. Das "innere Salz" Kotarnolin - auch als ein "Phenol-Betain" zu bezeichnen - zeigte nur eine kurze Laufstrecke, während das methylierte Alkaloid eine wesentlich größere aufwies. Das im Gegensatz zum Kotarnolin nicht mehr gelb gefärbte Methylierungsprodukt war im Pherogramm nur noch im UV-Licht als stark fluoreszierende Zone zu erkennen.

Als quartäre Base, wie sie v. BRUCHHAUSEN formulierte, hätte meines Erachtens Kotarnolin im Elektropherogramm erheblich weiter laufen müssen, als dies der Fall war. Die kurze Wanderungsstrecke sprach mehr für ein "Phenol-Betain".

Die Methylierung der phenolischen Hydroxylgruppe des Kotarnolins hätte theoretisch zu der Base Kotarnin führen müssen. Die Fluoreszenzerscheinungen auf dem Elektropherogramm ließen aber deutlich werden, daß es doch noch Unterschiede zwischen dem authentischen Kotarnin und dem aus Kotarnolin synthetisierten gab, die ich aber nicht aufklären konnte.

Auch S. PFEIFER (32) beschrieb das merkwürdige Verhalten des aus Kotarnolin hergestellten Methylierungsproduktes, ohne dafür eine Erklärung zu haben.

Die vergleichende Gegenüberstellung von Kotarnolin und dessen Methylverbindung in der chemischen Verhaltensweise und in den Laufstrecken im Elektropherogramm erbrachten Beweise für die Richtigkeit der für Kotarnolin aufgestellten Formel eines "Phenol-Betains".

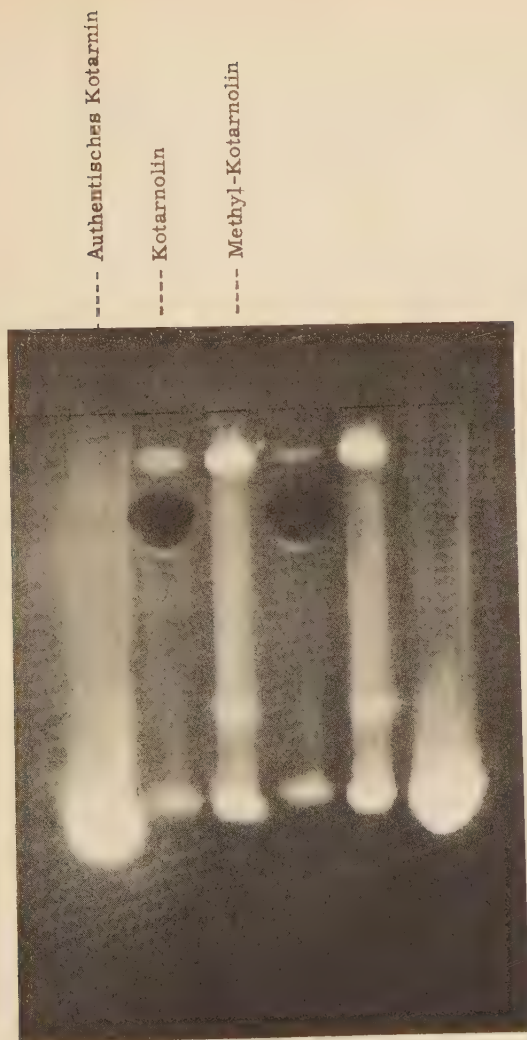


Abb. 8

Elektropherogramm zum Vergleich der Laufstrecken von Kotarnin, Kotarnolin und Methyl-Kotarnolin.

ZUSAMMENFASSUNG.

Zwei Fraktionen der industriellen Opiumverarbeitung und handelsübliches Opium zweier Herstellerfirmen wurden auf niedermolekulare N-haltige Verbindungen hin untersucht.

Dabei fanden sich in den Filtraten der Phosphorwolframsäurefällungen 9 Aminosäuren: Glykokoll, Alanin, Prolin, Leucin, Phenylalanin, Threonin, Lysin, Tyrosin, und Methionin.

In den PWS-Fällungen wurden mehrere flüchtige Amine in wechselnder Zusammensetzung ermittelt. Bei allen Untersuchungen waren zu finden: Methylamin, Dimethylamin, Äthylamin, Isoamylamin, β -Phenyläthylamin, und Pyrrolidin.

Nur in den Endlaugen der großtechnischen Opiumaufbereitung war noch Trimethylamin vorhanden, das als Chloraurat isoliert wurde.

Opiumpulver der Firma Merck, Darmstadt, Charge Nr. 52 798 A enthielt außer den oben aufgezählten Aminen noch ein in seiner Konstitution unaufgeklärtes Amin. Von diesem und von Pyrrolidin wurden IR-Spektren aufgenommen. An Hand dieser zeigte sich, daß zwischen den beiden Aminen gewisse Ähnlichkeiten bestehen. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Pyrrolinderivat. Anzeichen für ein von L. REUTTER DE ROSEMONT erwähntes Methylpyrrolidin liegen nicht vor.

Opium der Firma Hoffmann la Roche Charge Nr. G 505 232 enthielt nur die anfangs erwähnten 6 flüchtigen Amine.

Diese qualitativen Abweichungen in der Zusammensetzung der flüchtigen Amine könnten eventuell Anhaltspunkte zur Ermittlung der Herkunft von Opiumproben geben. Dazu müßte aber noch Opium bekannter Provenienzen auf die jeweilige Zusammensetzung der flüchtigen Amine geprüft werden.

In den untersuchten Opiumauszügen waren keine Purine und kein Histidin und Arginin nachzuweisen, die eigentlich zu erwarten gewesen wären.

Für die Kurzanalyse wurde ein Verfahren entwickelt, das gestattet, aus 10 g Untersuchungsmaterial die flüchtigen Amine elektrophoretisch und papierchromatographisch sicher zu identifizieren.

Als Beitrag zur Chemie der Opiumalkaloide wurde von dem im Laufe der oben beschriebenen Untersuchungen anfallenden Kotarnolin die bereits von anderen Autoren postulierte "Phenol-Betain" Struktur papierelektrophoretisch erhärtet.

EXPERIMENTELLER THEIL

DIE PAPIERCHROMATOGRAPHIE.

Papier: Schleicher & Schüll 2043b MGl.

Es wurde absteigend chromatographiert.

- Lösungsmittel I: n-Butanol: Eisessig: Wasser = 4 : 1 : 1.
Papier gepuffert mit 0,2 %iger Natrium-
azetatlösung (17).
- Lösungsmittel II: n-Butanol: Eisessig: Wasser = 6 : 1 : 2.
- Lösungsmittel III: n-Propanol: Ameisensäure: Wasser = 8 : 1 : 1.
Papier gepuffert mit 2 %iger sek. Natrium-
phosphatlösung (25).
- Lösungsmittel IV: Phenol: Wasser = 80 : 20 mit Zusatz von
0,10 ml Ammoniakflüssigkeit (19).
- Sprühreagenz I: Ninhydrinlösung.
- Sprühreagenz II: Modifizierter Dragendorff nach Jatzkewitz.
- Sprühreagenz III: 0,2 g Natrium - α - naphthochinon-sulfonat
und 5,0 g Natriumkarbonat wasserfrei zu
100,0 ml destilliertem Wasser gelöst.

Alle angegebenen Rf-Werte sind Mittel aus mehreren Versuchen.

Die Schmelzpunkte wurden auf der Kofler-Apparatur gemessen.

Sämtliche Elementaranalysen wurden von der Firma Dr. Ing.

K. Schöller, Kronach, ausgeführt.

DIE "NICHTPHENOLISCHE" ENDLAUGE.

5 kg der "nichtphenolischen" Endlauge wurden mit Schwefelsäure schwach lackmussauer gemacht und im Vakuum bis zur Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeeengt. Aus dem Destillationsrückstand konnte durch vorsichtigen Zusatz von Äthanol Natriumsulfat abgetrennt werden. Der Überschuß an Alkohol wurde abdestilliert und der verbliebene Extrakt mit Bleiazetatlösung im Überschuß vorgereinigt. Nach dem Entfernen der Bleionen mit Schwefelsäure wurde die gesamte Lösung 5 % schwefelsauer gemacht und mit 5 Liter Phosphorwolframsäurelösung (500,0 + 1 Liter 5 Gew. % Schwefelsäure) unter ständigem Rühren völlig ausgefällt.

Das Filtrat der PWS-Fällung wurde mit Baryt "bis zur Haut" versetzt, der Bariumüberschuß mit Schwefelsäure entfernt und zu einem dicken Sirup eingeeengt. Dieser Sirup enthielt die freien Aminosäuren.

Die PWS-Fällung selbst wurde ebenfalls mit Baryt zerlegt und das Barium durch Kohlendioxyd und Schwefelsäure beseitigt. Die jetzt alkalisch reagierende Lösung enthielt keine Barium-Ionen mehr und nur Spuren von Schwefelsäure. Im Vakuum wurde die Lösung zum Sirup eingeeengt, das Destillat über 2n - Salzsäure aufgefangen und bis zur Salzkruste eingedampft. Das Gemisch aus Ammonchlorid und den Hydrochloriden der flüchtigen Amine wurde mit absolutem Alkohol behandelt, so daß die Amine abgetrennt werden konnten.

DIE "PHENOLISCHE" ENDLAUGE.

1 kg der "phenolischen" Endlauge wurde - wie im Schema II gezeigt - zunächst bei schwefelsaurer Reaktion auf die Hälfte des Volumens eingengt. Der dünne Extrakt wurde vorsichtig mit Äthanol versetzt, wobei eine braun-schwarze, teilweise kristalline Masse ausfiel, die neben Natriumsulfat mit Eisen durchsetzt war. Das Filtrat der Natriumsulfat-Fällung wurde im Vakuum vom Äthanol befreit. Der so erhaltene Extrakt wurde mit Bleiazetatlösung im Überschuß vorgereinigt und anschließend mit Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt, um die noch vorhandenen Alkaloide vor der PWS-Fällung zu entfernen. Die ausgefallenen Alkaloide konnten mit Äther ausgeschüttelt werden. Die wässrige Phase wurde mit festem Baryt alkalisiert und der Bariumüberschuß durch Kohlendioxyd beseitigt. Die bariumkarbonatalkalische Lösung mußte im Vakuum zu einem dünnen Sirup eingengt werden, wobei die mit überdestillierten flüchtigen Amine in der Vorlage in je 50 ml 2n - Salzsäure aufgefangen wurden. Die salzsaure, aminhaltige Lösung wurde anschließend bei natriumkarbonatalkalischer Reaktion über frisch gefälltem Quecksilberoxyd zur Beseitigung des Ammoniaks im Vakuum destilliert und die flüchtigen Basen wiederum in 2n - Salzsäure aufgefangen. Die sauer reagierende Aminlösung mußte bis zur Salzkruste eingengt werden.

Der Destillationsrückstand wurde 5 % schwefelsauer gemacht und mit 1,21 Liter PWS-Lösung unter Rühren ausgefällt. Das von Bariumionen befreite Filtrat der PWS-Fällung wurde nach dem Einengen auf freie Aminosäuren untersucht.

Die mit Baryt zerlegte PWS-Fällung selbst zeigte eine berberingelbe Färbung, die auf Säurezusatz wieder verblaßte. Diese Fraktion enthielt nur noch die nichtflüchtigen Basen, welche getrennt aufgearbeitet wurden.

Die Fraktion der freien Aminosäure beider Teile, sowohl der "nichtphenolischen" als auch der "phenolischen" Endlauge, chromatographierte ich nach der von EUBEL (19) angegebenen Methode eindimensional und erreichte damit eine genügende Trennung. Das Aminosäuregemisch wurde strichförmig aufgetragen und die Vergleichssubstanzen im jeweiligen Abstand von 2 cm daraufgesetzt.

Mit Lösungsmittel II, Sprühreagenz I und III wurden erkannt:
Lysin $R_f = 0,09$, Alanin $R_f = 0,19$, Prolin $R_f = 0,24$, Tyrosin $R_f = 0,33$, Leucin $R_f = 0,59$, Methionin $R_f = 0,41$, Phenylalanin $R_f = 0,53$.

Mit Lösungsmittel IV, Sprühreagenzien I und III wurden weiter erkannt: Threonin $R_f = 0,52$, Glykokoll $R_f = 0,43$.

Die flüchtigen Amine wurden nach LIST und MENSSEN (20) am Rückflußkühler mit siedendem Chloroform ausgezogen. Der in Chloroform unlösliche Rückstand wurde als Chloraurat zur Analyse gegeben. Die Bruttoformel ergab $C_3H_9N \cdot HAuCl_4$ und wurde somit als Trimethylamin-Goldsalz erkannt, $F_p = 203^\circ$.



Ber.: C 9,03 H 2,52 N 3,52 Au 49,41 Cl 35,53

Gef.: 9,57 2,38 3,86 48,77 35,42

ZERLEGUNG DES OPIUMS MIT STARK BASISCHEM IONENAUSTAUSCHER.

750 g handelsübliches Opiumpulver wurden mit Kieselgur vermengt in einen Perkulator gefüllt und zunächst mit 1 Liter 1 %iger Essigsäure, später mit destilliertem Wasser, extrahiert bis die perkolierte Flüssigkeit farblos aus dem Apparat tropfte. Das essigsaure Perkolat wurde im Vakuum stark eingeengt, wobei die überschüssige Essigsäure mit abdestillierte.

2 Liter wässrigen Opiumextrakts wurden in fünf Portionen zu 400 ml geteilt. Jeder Anteil wurde mit ca. 1 Liter stark basischem Ionenaustauscher vermischt und nach kräftigem Durchrühren von den ausfallenden Alkaloiden filtriert. Der Ionenaustauscher wurde bis zur neutralen Reaktion mit Wasser gespült, wozu ungefähr 15 Liter Wasser benötigt wurden. Die erhaltene Lösung der wasserlöslichen Basen wurde im Vakuum bei eigenalkalischer Reaktion stark eingeengt und die überdestillierten flüchtigen Amine in 2n - Salzsäure aufgefangen. Der Rückstand bestand aus nichtflüchtigen Basen, die getrennt untersucht wurden. Die salzsaure Lösung der flüchtigen Amine mußte im Vakuum eingeengt werden. Auf diese Weise wurden 5 x 400 ml Opiumextrakt, nach jeweiliger Regeneration der Kunsthharze mit 1 Liter 10 %iger Natronlauge, nach und nach aufgearbeitet und die Fraktion der flüchtigen und nichtflüchtigen Basen gesammelt.

Die sirupartige, salzsaure Lösung der flüchtigen Amine wurde mit Soda bis zur alkalischen Reaktion versetzt und über frisch gefälltem Quecksilberoxyd der Wasserdampfdestillation unterworfen. Zur Elimination des Ammoniaks aus dem Amingemisch genügten ungefähr 50 g noch feuchten gelben Quecksilberoxyds. Die Vorlage der Destillationsapparatur war wieder mit 2n - Salzsäure

beschickt, so daß die flüchtigen Amine darin aufgefangen werden konnten. Die salzsaure Aminlösung wurde nun im Vakuum bis zur Salzkruste destilliert.

PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE ERKENNUNG DER FLÜCHTIGEN AMINE.

Die flüchtigen Amine aus den Endlaugen und aus dem handelsüblichen Opium konnten papierchromatographisch getrennt und im Vergleich mit Testsubstanzen erkannt werden.

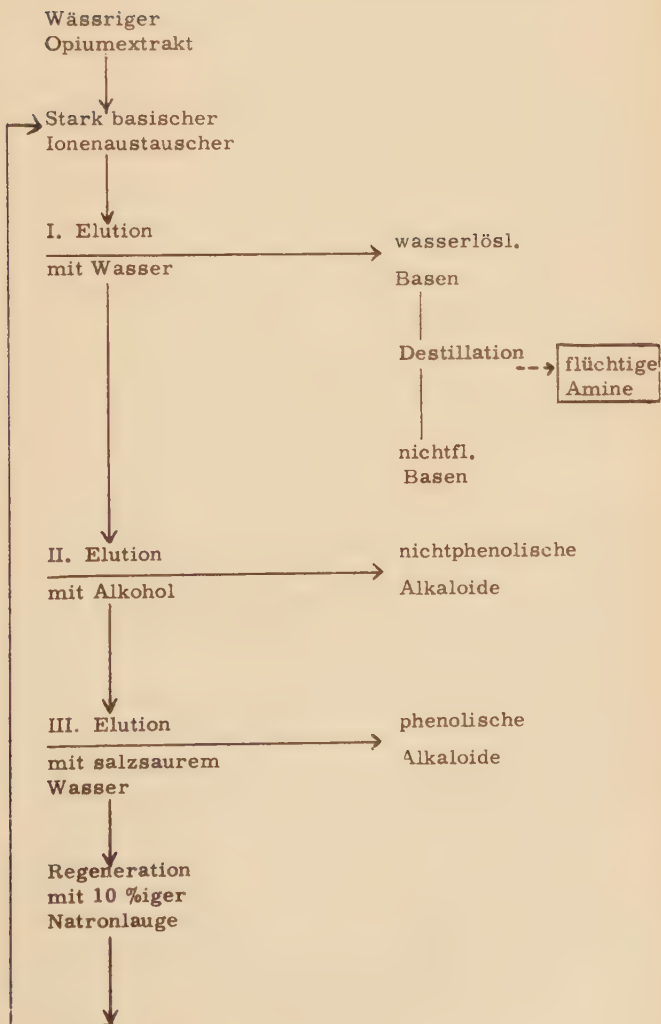
Lösungsmittel I und Sprühreagenz I:

Methylamin $R_f = 0,36$, Dimethylamin $R_f = 0,49$, Äthylamin $R_f = 0,54$, Pyrrolidin $R_f = 0,59$, β -Phenyläthylamin $R_f = 0,77$, Isoamylamin $R_f = 0,81$, das unbekannte Amin des Opiums "Merck Charge Nr. 52 798 A" $R_f = 0,66$.

Lösungsmittel III und Sprühreagenz I:

Methylamin $R_f = 0,28$, Dimethylamin $R_f = 0,40$, Äthylamin $R_f = 0,52$, Pyrrolidin $R_f = 0,54$, β -Phenyläthylamin $R_f = 0,69$, Isoamylamin $R_f = 0,76$, das unbekannte Amin $R_f = 0,57$.

ARBEITSSCHEMA FÜR DIE GEWINNUNG
DER OPIUMBASEN
MIT HILFE VON IONENAUSTAUSCHER.



ELEKTROPHORETISCHE AUFTRENNUNG UND IDENTIFIZIERUNG DER FLÜCHTIGEN AMINE.

Elektrophoriert wurde auf Papier Schleicher & Schüll 2317.

Als Puffer diene ein Gemisch aus:

Pyridin: Eisessig: Wasser = 90 : 10 : 900; $p_H = 6,5$.

Die Laufzeit betrug 4 1/2 Stunden bei 340 Volt und 16 mA, der Elektrodenabstand war 40 cm.

Die Aminlösungen wurden in 2 cm breiten Strichen in einem Abstand von 1 cm auf das Papier aufgetragen.

Die Wanderungsstrecken waren:

Methylamin 24,6 cm; Dimethylamin 22,5 cm; Äthylamin 20,0 cm;

Pyrrolidin 15,3 cm; Isoamylamin 14,1 cm; β -Phenyläthylamin 12,8 cm;

das unbekannte Amin 18,1.

SYNTHESE EINIGER VERGLEICHSSUBSTANZEN.

Zur Einführung der Methylgruppe in den primären Aminstickstoff wurde die Methode nach LEUKART und WALLACH (33) benutzt und folgende Stoffe N-methyliert:

1. Aminoäthanol, Ansatz 12,2 g $\longrightarrow$ N-Methyl-aminoäthanol,
2. β -Phenyläthylamin, Ansatz 2,4 g $\longrightarrow$ N-Methyl-phenyläthylamin,
3. Benzylamin, Ansatz 21,4 g $\longrightarrow$ N-Methyl-benzylamin.

Die Molverhältnisse:

Prim. Amin: Ameisensäure: Formaldehyd = 2 : 5 : 2,2.

Dabei waren die Konzentrationen der Ameisensäure 85 % und die des Formaldehyd 35 %.

Die Mischung des Ausgangsstoffes mit der Ameisensäure und dem Formaldehyd wurde in ein mit Rückflußkühler versehenes Kölbchen gebracht und in ein kaltes Wasserbad gehalten, welches langsam angeheizt wurde. Bei 65° Badtemperatur begann die Mischung unter Kohlendioxydentwicklung zu reagieren. Die Reaktion wurde bei 70° stürmisch und war gegen 80° beendet. Das Reaktionsgemisch wurde 1 1/2 Stunden in dem 70° heißen Wasserbad belassen. Danach wurde das Gemisch in ein Schälchen gegossen und nach Zusatz von wenig verdünnter Salzsäure im Luftstrom auf dem Wasserbad eingedunstet. Der Rückstand wurde mit PWS gefällt und die Fällung mit Baryt zerlegt. Der Bariumüberschuß wurde mit Schwefelsäure genau entfernt und die Lösung im Vakuum bei schwach saurer Reaktion zur Trockne gebracht.

PRÄPARATIVE PAPIERCHROMATOGRAPHIE.

Zur präparativen papierchromatographischen Trennung der flüchtigen Amine nach der Methode von NEU und FIEDLER (22) wurde ein schmaler Streifen als Parallelchromatogramm vom Boden abgetrennt und mit Sprühreagenz I die Lage der einzelnen Amine bestimmt. Die Auftragung des Amingemisches wurde in Abständen von 1 cm vorgenommen. Damit konnte eine Anreicherung der Amine in den später abgeschnittenen Streifen erreicht werden. Die einzelnen aminhaltigen Papierstreifen wurden mit je 10 ml Wasser eluiert. Auf diese Weise konnte das unbekannte Amin und Pyrrolidin isoliert und mit Goldchloridchlorwasserstoffsäure gefällt werden.

Je 5 mg von Pyrrolidin und von dem unbekannten Amin wurden völlig trocken mit je 1,2 g in der Trockenpistole getrocknetem Kalium-

bromid gut verrieben. Bei 300 Atü wurden die einzelnen Substanzen zu zwei durchscheinenden Tabletten gepreßt. Diese wurden zur Aufnahme der IR-Spektren in einen Infrarot Spektrographen eingepaßt.

MIKROKRISTALLISATION DER FLÜCHTIGEN AMINE IN DER FEUCHTEN KAMMER.

Die einzelnen Aminlösungen, welche mit Hilfe der präparativen Papierchromatographie gewonnen wurden, engte ich bei schwach saurer Reaktion im Vakuum stark ein. Die verbliebene kleine Menge von Aminlösung wurde in einem Mikrogläschen mit 20 %iger Natronlauge versetzt, mit einem das Reagenz im hängenden Tropfen tragenden Deckgläschen bedeckt und in die feuchte Kammer eingebracht. Sie bestand aus einer zu $\frac{2}{3}$ mit Wasser gefüllten flachen Petrischale, in die ein 100 - 150 ml fassendes Becherglas mit der Öffnung in das Wasser gestülpt wurde. Nach Verdunsten des Wassers mußte dieses sofort ergänzt werden, damit der Luft-raum unter dem Becherglas mit Wasserdampf gesättigt blieb. Die feuchte Kammer war immer mindestens 24 Stunden vor Ansetzen des Versuches zu erstellen.

Die von mir ermittelten Schmelzpunkte der flüchtigen Amine als 2,4-Dinitro - α - naphtholverbindungen, im Vergleich zu den von E. STEIN VON KAMIENSKI (21) angegebenen Werten, sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt worden:

Amin	Fp gefunden	Fp Literatur
Methylamin	165 - 166 ^o	166 ^o
Dimethylamin	170 ^o	171 ^o
Äthylamin	154 - 155 ^o	156 ^o
Pyrrolidin	168 - 170 ^o	---
unbek. Amin	156 - 158 ^o	---
Isoamylamin	158 ^o	156 ^o
β-Phenyläthylamin	169 - 171 ^o	171 ^o

Die nächste Tabelle zeigt die Schmelzpunkte der flüchtigen Amine als Pikrate:

Amin	Fp gefunden	Fp Literatur
Methylamin	199 - 200 ^o	215 ^o
Dimethylamin	156 ^o	155 - 156 ^o
Äthylamin	164 ^o	165 ^o
Pyrrolidin	110 ^o	111 - 112 ^o
unbek. Amin	199 - 200 ^o	---
Isoamylamin	125 - 127 ^o	132 - 134 ^o und 130 - 131 ^o
β-Phenyläthylamin	166 ^o	171 - 174 ^o

Sämtliche Schmelzpunkte wurden durch jeweils drei Parallelversuche ermittelt.

ISOLIERUNG DES KOTARNOLINS.

Als Chlorid von der zerlegten alkalischen Reineckatfällung wurde die an Kotarnolin angereicherte Fraktion über eine Aluminiumoxydsäule mit wassergesättigtem n-Butanol chromatographiert. Die deutlich als gelbe Zone sichtbare Hauptfraktion wurde gesammelt und im Vakuum getrocknet.

Hochspannungselektrophorese: 600 Volt, 6 mA, Laufzeit 4 Stunden.

Pufferlösung: Pyridin: Eisessig: Wasser = 9:1:990.

Papier Schleicher & Schüll 2317

Wanderungsstrecke des Kotarnolins: 4,3 cm.

Sprühreagenzien: Paulysche Diazoprobe : negativ

Millonsche Probe : schwach positiv

Dragendorff : positiv

Ninhydrin : negativ

Isoliert wurde das Kotarnolin im Eiphorgerät, durch präparative Elektrophorese nach GRASSMANN und HANNIG (26).

Papier: Schleicher & Schüll Elpha Va-Trennbogen Nr. 204a, 475 x 550 mm.

Pufferlösung: Pyridin: Eisessig: Wasser = 9:1:990, Spannung 600 Volt, Stromstärke 10 mA.

Die im Vakuum getrocknete Fraktion des Kotarnolins wurde mit alkoholischer Pikrinsäurelösung in das Pikrat umgewandelt, umkristallisiert und analysiert:

$C_{17}H_{14}N_4O_{10}$ (434, 312)

Ber.: C 47,01 H 3,25 N 12,90 O 36,84

Gef.: 45,92 3,45 13,07 37,56

Die Methylierung der phenolischen Hydroxylgruppe des Kotarnolins wurde mit Diazomethan durchgeführt. Eine kleine Menge von Kotarnolin wurde in wasserhaltigem Azeton gelöst und unter Eiskühlung mit einer Lösung von Diazomethan in Azeton zusammengegossen. Nach etwa einer Stunde wurde die Mischung vom Eis genommen und im Vakuum das Lösungsmittel abgezogen.

Kotarnolinchlorid, das methylierte Kotarnolin und authentisches Kotarnin wurde auf Papier Schleicher & Schüll 2317 aufgetragen und bei 600 Volt Spannung und 6 mA Stromstärke 4 1/2 Stunden elektrophoriert. Es wurden die Wanderungsstrecken der drei Substanzen miteinander verglichen:

Kotarnolin = 4 cm

Methylierungsprodukt = 16 cm

Authent. Kotarnin = 16 cm

LITERATURVERZEICHNIS

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. R. Dietzel für das Wohlwollen und Interesse, das er meinen Studien entgegenbrachte, an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Ebenso danke ich Herrn Priv. Dozent Dr. P.H. List, der die Arbeit leitete und mir bei ihrer Ausführung jederzeit mit seinem Rat in liebenswürdiger Weise zur Seite stand.

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg in der Zeit vom 1. September 1956 bis zum 15. Mai 1959 von mir ausgeführt und zusammengestellt.

Ich versichere an Eides Statt, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere an Eides Statt, daß ich bisher kein anderes Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung bekommen habe.

Heinrich Eick

LEBENS LAUF

Am 4. Juni 1928 wurde ich als Sohn des Lehrers Erich Hlubek und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Meyer in Liegnitz/Schlesien geboren. Im Jahre 1934 wurde ich in die ev. Volksschule in Liegnitz eingeschult und nach 4-jähriger Grundschulzeit 1938 in die Oberschule für Jungen in Goldberg/Schlesien aufgenommen.

Am 10. Januar 1944 erhielt ich die Einberufung als Luftwaffen-
helfer. Im Mai 1946 kehrte ich zu meinen Eltern nach Nürnberg zurück und nahm die unterbrochene Schulausbildung am Realgymnasium Nürnberg wieder auf. Dort legte ich im Juni/Juli 1948 das Abitur ab.

Vom 1. Oktober 1949 bis zum 30. September 1951 verbrachte ich meine Praktikantenjahre in der Kreuz-Apotheke Nürnberg. Im September 1951 bestand ich das pharmazeutische Vorexamen mit der Note "sehr gut". Das Studium der Pharmazie begann ich im Winter-Semester 1951/52 an der Universität Erlangen und beendete es dort nach dem Sommer-Semester 1954 mit der pharmazeutischen Staatsprüfung, die mit "gut" benotet wurde. Ein Jahr später erhielt ich vom Bayerischen Innenministerium die Bestallung als Apotheker.

Am 1. Juli 1956 erhielt ich von der Universität Würzburg eine Anstellung als Apotheker in der Central-Apotheke des Luitpoldkrankenhauses. Die Arbeiten für eine Inaugural-Dissertation über das Thema "Niedermolekulare N-haltige Verbindungen des Opiums" führte ich am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg seit dem Winter-Semester 1956/57 aus. Nunmehr bewerbe ich mich erstmalig um den Doktorgrad der Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg.

Böhlér DRUCK

Würzburg